

Encapsulation of active agents, especially drugs, by diffusion into previously prepared particles, e.g. based on alginate, to give injectable slow release formulations

Patent number: DE19930795
Publication date: 2001-01-11
Inventor: PLUESS-WENZINGER RAPHAEL (CH); PLUESS-WENZINGER FRANZISKA (CH)
Applicant: ENCAPBIOSYSTEMS AG SCHIERS (CH)
Classification:
- **international:** B01J2/00; A61J3/00; A61K9/14
- **European:** A61K9/16P4; B01J2/00
Application number: DE19991030795 19990703
Priority number(s): DE19991030795 19990703

Report a data error here

Abstract of DE19930795

Encapsulation of chemical or biological agents (I) involves adding (I), in the form of a solution or very fine suspension in a solvent, to previously prepared particles, so that (I) diffuse into the particle matrix and are retained after removal of the liquid. An Independent claim is included for particles for carrying out the process, which are spherical and have a diameter of 50-2000 micro m.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

THIS PAGE BLANK REPTON

⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

Offenlegungsschrift

⑯ DE 199 30 795 A 1

⑯ Int. Cl. 7:

D2
B 01 J 2/00

A 61 J 3/00

A 61 K 9/14

⑯ Anmelder:

EncapBioSystems AG, Schiers, CH

⑯ Vertreter:

Hiebsch Peege Behrmann, 78224 Singen

⑯ Erfinder:

Plüss-Wenzinger, Raphael, Dr., Schiers, CH;
Plüss-Wenzinger, Franziska, Schiers, CH

⑯ Entgegenhaltungen:

DE 196 37 082 A1
DE 38 34 794 A1
DE 33 19 181 A1
DE 695 05 896 T2

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ Verfahren zur Verkapselung von Substanzen sowie Teilchen dafür

⑯ Bei einem Verfahren zur Verkapselung von chemischen oder biologischen Substanzen diffundieren die Substanzen in vorgefertigte, meist kugelförmige Partikel von homogener Größe. Beim anschließenden Trocknen schrumpfen die Partikel stark und die Partikelmatrix bildet zusammen mit der verkapselften Substanz eine kompakte Einheit. Slow release Medikamente können nach diesem Verfahren einfach und mit sehr homogener Partikelgröße erzeugt werden.

DE 199 30 795 A 1

DE 199 30 795 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Verkapselung von chemischen oder biologischen Substanzen, bei dem gegebenenfalls zumindest zwei Substanzen zusammengeführt werden, von denen eine ein Wirkstoff sowie eine andere ein Zusatzstoff ist, der sich im menschlichen oder tierischen Körper langsam zersetzt und dadurch den Wirkstoff freigibt. Zudem erfasst die Erfindung Teilchen für dieses Verfahren.

Die Verkapselung von biologischen und chemischen Substanzen – wie etwa von medizinischen Wirkstoffen – hat vor allem in der pharmazeutischen Industrie und in der Biotechnologie eine große Bedeutung. Durch die Verkapselung kann man u. a. eine Schutzwirkung, eine bessere Handhabbarkeit oder eine spezielle Darreichungsform der Wirkstoffe erzielen. Werden medizinische Wirkstoffe in den Körper eines Patienten gespritzt, so wird der ganze Körper – oder werden spezifische Teile davon – vom Wirkstoff überschwemmt. Bei vielen Applikationen ist dies nicht erwünscht, sondern es wird eine kontinuierliche Durchdringung des Körpers während längerer Zeit angestrebt, was slow release oder Depotwirkung genannt wird. Dazu werden die Wirkstoffe oft in andere Substanzen eingepackt, aus denen sie langsam freigesetzt werden, indem die zweite Substanz beispielsweise selber langsam zerfällt oder eine Diffusionsbarriere für den Wirkstoff bildet.

Eine klassische Methode zum Herstellen von slow release Partikeln ist die sog. Coazervationstechnik. Dadurch werden jedoch Partikelcharge erzeugt, die eine äußerst inhomogene Partikelgröße besitzen, was für die Freisetzungskinetik der Wirksubstanzen sehr nachteilig ist. Andere Nachteile sind die Entstehung großer Abfallmengen, die Beschränkung auf wenige geeignete Polymersysteme oder der Bedarf eines speziellen Gerätes, z. B. eines Rührkessels.

Homogene Partikelcharge können durch die Zertropfung eines Flüssigkeitsstrahles, auf den eine Schwingung überlagert wurde, erzeugt werden. Jedoch auch diese Technik ist auf einige wenige Polymersysteme beschränkt, produziert oft unregelmäßige und klebrige Partikel, erzeugt unter Umständen große Abfallmengen und benötigt spezielle Geräte. Beide Systeme besitzen den Nachteil, dass viele Substanzen bei der Härtung der Partikel in das Härtungsbäder ausgeschwemmt werden und dadurch verloren gehen können.

Wenn nur eine sehr geringe Substanzmenge zur Verfüzung steht, ist die Erzeugung weniger Partikel besonders bei der Coazervationstechnik problematisch, so dass die Herstellung einer Partikelcharge wegen der relativ großen Menge an zu verkapselnder Substanz sehr teuer werden kann.

In Kenntnis dieses Standes der Technik hat sich der Erfinder das Ziel gesetzt, ein Verfahren der eingangs genannten Art so zu verbessern, dass die geschilderten Mängel gänzlich oder zumindest großteils unterbunden werden.

Zur Lösung dieser Aufgabe führen die Lehren der unabhängigen Patentansprüche; die Unteransprüche geben günstige Weiterbildungen an. Zudem fallen in den Rahmen der Erfindung alle Kombinationen aus zumindest zwei der in der Beschreibung und/oder den Ansprüchen offenbarten Merkmale.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren werden die zu verkapselnden Substanzen in einer Flüssigkeit gelöst oder sehr fein suspendiert zu vorfabrizierten Teilchen gegeben, in die sie hineindiffundieren und beim Entfernen der Flüssigkeit in der Matrix der Teilchen zurückgehalten werden. Dazu hat es sich als günstig erwiesen, zuerst Polymerpartikel von sehr homogener Größe und mit einem Feststoffgehalt von 1 bis 10% herzustellen. Die Flüssigkeit dieser Partikel – meistens Wasser – wird durch das für die zu verkap-

selnde Substanz geeignete Lösungsmittel ausgetauscht. Von diesen Partikeln kann eine größere Menge auf Vorrat gehalten werden. Bei Bedarf wird von einer Partikelsuspension das Lösungsmittel abgesaugt, so dass die mit Lösungsmittel prall gefüllten Partikel zurück bleiben.

Nach einem weiteren Merkmal der Erfindung kann um die mit der zu verkapselnden Substanz gefüllten Polymerpartikel eine Schicht gebildet werden, durch welche die verkapselte Substanz nicht hindurchdringen kann und die sich 10 nach einiger Zeit selbst zersetzt; dadurch wird die Substanz zeitlich verzögert freigesetzt. Eine optimale Konstruktion würde so aussehen, dass die Polymerkugel mit Wasser und einem Impfstoff gefüllt ist und um sie eine wasserdichte poly-lactic-acid Schicht besteht. Der Vorteil dieser Konstruktion gegenüber Polymerkugeln, in denen der Impfstoff in poly-lactic-acid verkapselt ist, besteht darin, dass der Impfstoff nicht durch das benötigte hydrophobe Lösungsmittel denaturiert wird – und so einen beachtlichen Anteil 15 der Wirkung verliert –, sondern im wässrigen Medium bleibt.

Die zu verkapselnde Substanz wird im geeigneten Lösungsmittel gelöst oder sehr fein suspendiert (Nanopartikel). Diese Lösung/Suspension wird mit einer definierten Menge Partikel vermischt, so dass die Substanz in die Partikel hineindiffundieren kann. Sobald dieser Prozess abgeschlossen ist, was bei Partikeln < 1 mm und sanftem Durchmischen nur einige Minuten in Anspruch nimmt, wird die überschüssige Lösung abgesaugt, und zurück bleiben die mit Lösungsmittel und Substanz gefüllten Partikel. Diese Partikel können 20 bevorzugt im Luftstrom getrocknet werden. Dabei schrumpfen sie oft um 50% bis 95%, was für viele Anwendungen vorteilhaft ist, z. B. können kleinere Partikel einfacher gespritzt werden. Mit diesem Verfahren ist es möglich, ohne großen apparativen Aufwand falls vorfabrizierte Partikel 25 zugekauft werden – viele verschiedene Substanzen innerhalb kurzer Zeit zu verkapseln.

Ein anderer Vorteil liegt darin, dass je Ansatz auch ganz kleine Substanzmengen eingesetzt werden können, ohne dass die Möglichkeit des Up-scaling in Frage gestellt wird, 30 was bei teuren medizinischen Wirkstoffen sehr wichtig sein kann.

Schließlich hat es sich als vorteilhaft erwiesen, dass durch die Wahl der Substanzkonzentration und der Teilchendurchmesser eine definierte Menge Substanz pro Teilchen verkapelt werden kann.

Im Rahmen der Erfindung liegen Partikel oder Teilchen zur Durchführung des beschriebenen Verfahrens, die kugelförmig sind und einen Durchmesser von 50 bis 2000 µm besitzen sowie bevorzugt einen homogenen Kugeldurchmesser 35 mit einer maximalen Standardabweichung von 15% besitzen. Sie sollen sich gegebenenfalls unter physiologischen Bedingungen auflösen lassen und die Substanz fein verteilt freisetzen.

Die Matrix dieser Teilchen soll zudem mindestens 20 Gewichtsprozent Alginat aufweisen. In die Teilchenmatrix wird ein Wirkstoff – oder werden mehrere Wirkstoffe – zusammen mit einer – oder mehreren – sich im menschlichen oder tierischen Körper nach gewisser Zeit zersetzende Substanz verkapselt und können für slow release des Wirkstoffes oder Wirkstoffgemisches eingesetzt werden.

Nach einem weiteren Merkmal der Erfindung sind die Teilchen in einer Flüssigkeit suspendiert und reduzieren beim Trocknen ihr Volumen um 50 bis 95%. Die sich nach gewisser Zeit zersetzende Substanz soll bevorzugt poly-lactic acid, poly-lactic-co-glycolic acid oder eine Mischung von beiden sein. In diese Teilchen – oder in solche aus anderen Substanzen – soll dann eine definierte Menge Substanz oder Substanzgemisch verkapselt sein, wobei die Standard-

abweichung in der Substanzmenge zwischen den einzelnen Partikel maximal $\pm 20\%$ beträgt.

Weitere Vorteile, Merkmale und Einzelheiten der Erfahrung ergehen sich aus der nachfolgenden Beschreibung bevorzugter Ausführungsbeispiele:

Beispiel 1

Herstellung von slow release Partikeln

20 ml einer 1.5% Na-Alginatlösung werden mit einer geeigneten Zertropfungsmethode in Kugeln homogener Größe und einem mittleren Durchmesser von 500 μm zerteilt. Eine entsprechende Methode ist die Zertropfung durch Überlagerung einer Schwingung auf einen Flüssigkeitsstrahl, wie sie im Encapsulator der Firma Inotech Labor AG, Dottikon, Schweiz, verwirklicht ist. Die Kugeln werden in einem Härtungsbad mit 0.1 M CaCl_2 aufgefangen und während 10 min ausgehärtet. Dann wird $1 \times 300 \text{ ml}$ entionisiertem Wasser gewaschen. Nach 5 min wird $2 \times$ während 5 min mit 20

100 ml Aceton gewaschen und das Aceton abgesaugt. 25 100 mg Estradiol + 2 g Polymilchsäure werden in 20 ml Aceton gelöst. Diese Lösung wird zu den abgetropften Alginatkugeln gegeben und die Kugelsuspension während 10 min leicht gerührt. Dann wird die sich außerhalb der Kugeln befindliche Lösung abgesaugt, und die Kugeln werden im Warmluftstrom getrocknet. Während der Trocknung entweicht das Aceton und die Kugeln schrumpfen. Es bilden sich kompakte runde Partikel, die mehrheitlich aus Polymilchsäure mit einem Ca-Alginatgerüst bestehen, in das der medizinische Wirkstoff Estradiol eingebettet ist. In dieser Form sind die Partikel lange haltbar. Werden diese Partikel subcutan gespritzt, zerfällt die Polymilchsäure langsam und das eingeschlossene Estradiol wird über längere Zeit freigesetzt. 35

Falls nur sehr wenig Wirkstoff für einen Test verkapselt werden muss, kann dieser z. B. in nur 1 ml Aceton und 0.1 g Polymilchsäure gelöst und diese Lösung zu 1 ml abgetropfter Alginatkugeln gegeben werden.

Beispiel 2

Verkapselung einer definierten Menge Glukose pro Partikel

20 ml 1.5% Na-Alginatlösung werden mit einer geeigneten Zertropfungsmethode in Kugeln homogener Größe zerteilt. Kugelchargen mit einer Standardabweichung des Kugeldurchmessers $< 5\%$ sind notwendig. Diese Kugeln werden in 300 ml einer 0.1 M CaCl_2 -Lösung aufgenommen und während 10 min ausgehärtet. Danach werden die Kugeln $2 \times$ 50 während 5 min mit 300 ml entionisiertem Wasser gewaschen und am Schluss in 100 ml Wasser aufgenommen. Nach einer Stunde wird unter dem Mikroskop bei 20 Kugeln der Durchmesser und somit das Volumen der Kugel bestimmt. 55

Bei Kugeln mit einem mittleren Durchmesser von 700 μm ergibt das ein Volumen von 0.18 mm^3 bzw. ein Gewicht von 180 μg pro Kugel. Um pro Kugel 5 μg Glukose zu verkapseln, muss eine Glukoselösung hergestellt werden, die $2 \times 5 \mu\text{g}$ Glukose pro 180 μg Lösung enthält (5.55%). 60

Zu 5 g abgetropfter Alginatkugeln werden 5 ml einer 5.55%igen Glukoselösung gegeben und die Kugelsuspension während 10 min gerührt. Nach dieser Zeit hat sich ein Gleichgewicht zwischen der Zuckerkonzentration außerhalb der Kugeln und innerhalb der Kugeln gebildet, da bei dem kleinen Kugeldurchmesser von 700 μm nur geringe Diffusionswiderstände bestehen. Danach wird die sich außerhalb der Kugeln befindliche Zuckerkonzentration abgesaugt, und die

Kugeln werden im Warmluftstrom getrocknet. Während der Trocknung schrumpfen die Alginatkugeln, was jedoch keinen Einfluss auf den Glukosegehalt hat. In dieser Form sind die Kugeln sehr robust und können lange Zeit aufbewahrt werden.

Bei Bedarf können eine oder mehrere Kugeln mit Wasser oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel extrahiert werden. Falls die Kugel selber auch aufgelöst werden soll, muss zum Lösungsmittel ein Ca-Chelatbildner wie EDTA 10 oder tri-Natriumcitrat gegeben werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Verkapselung von chemischen oder biologischen Substanzen, dadurch gekennzeichnet, dass die zu verkapselnden Substanzen in einer Flüssigkeit gelöst oder sehr fein suspendiert zu vorfabrizierten Teilchen gegeben werden, in sic hincindiffundieren und beim Entfernen der Flüssigkeit in der Matrix der Teilchen zurückgehalten werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Polymerpartikel homogener Größe und mit einem Feststoffgehalt von bis zu 10% hergestellt werden und die Flüssigkeit der Partikel durch ein für die zu verkapselnde Substanz geeignetes Lösungsmittel ausgetauscht wird.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass um die mit der zu verkapselnden Substanz gefüllten Polymerpartikel eine Schicht gebildet wird, welche das Hindurchdringen der verkapselten Substanz hemmt und die sich nach einem Zeitintervall selbst zerstört sowie dadurch die Substanz zeitlich verzögert freisetzt.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung oder Suspension mit einer definierten Menge Partikel vermischt sowie anschließend die überschüssige Lösung abgesaugt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei dem zumindest zwei Substanzen zusammengeführt werden, von denen eine ein Wirkstoff sowie eine andere ein Zusatzstoff ist, der sich im menschlichen oder tierischen Körper langsam zerstört und dadurch den Wirkstoff langsam freisetzt, dadurch gekennzeichnet, dass gleichzeitig die zwei oder mehr Substanzen verkapselt werden und der Zusatzstoff in zumindest fünf-fach größerer Menge vorliegt als der Wirkstoff.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass für den Einsatz in sog. slow release des Wirkstoffes oder Wirkstoffgemisches in die Teilchenmatrix ein oder mehrere Wirkstoffe zusammen mit einer oder mehreren sich im menschlichen oder tierischen Körper nach gewisser Zeit zerstörenden Substanzen verkapselt werden.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet durch kugelförmige vorfabrizierte Teilchen eines Durchmessers von 50 bis 2000 μm .
8. Verfahren nach Anspruch 7, gekennzeichnet durch einen homogenen Kugeldurchmesser der vorfabrizierten Teilchen mit einer maximalen Standardabweichung von $\pm 15\%$.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, gekennzeichnet durch eine Matrix der vorfabrizierten Teilchen mit mindestens 20 Gewichtsprozent Alginat.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit außerhalb der Kugeln durch Absaugen und die Flüssigkeit innerhalb der Kugel durch einen Trocknungsvorgang entfernt wird, nachdem die zu verkapselnde Substanz in

die Kugeln hineindiffundiert ist.

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Partikel im Luftstrom getrocknet werden.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Partikel beim Trocknen schrumpfen, wobei sich das Volumen der Partikel um 50 bis 95% vermindert.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass durch Wahl der Substanzkonzentration und der Teilchendurchmesser eine definierte Menge zu verkapselfender Substanz je Teilchen hergestellt sowie die definierte Menge Substanz oder Substanzgemisch verkapstelt wird.

14. Verfahren nach Anspruch 13, gekennzeichnet durch eine Standardabweichung in der Substanzmenge zwischen den einzelnen Partikeln von höchstens $\pm 20\%$.

15. Teilchen zur Durchführung des Verfahrens nach wenigstens einem der voraufgehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Teilchen kugelförmig ist und einen Durchmesser von 50 bis 2000 μm aufweist.

16. Teilchen nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass es einen homogenen Kugeldurchmesser mit einer Standardabweichung von höchstens 15% aufweist.

17. Teilchen nach Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, dass seine Matrix mindestens 20 Gewichtsprozent Alginat aufweist.

18. Teilchen nach einem der Ansprüche 15 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass es in einer Flüssigkeit suspendiert und sein Volumen gegebenenfalls durch einen Trocknungsvorgang um 50 bis 95% verminderbar ist.

19. Teilchen nach einem der Ansprüche 15 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die sich zersetzende Substanz poly-lactic acid, poly-lactic-co-glycolic acid oder eine Mischung von beiden ist.

20. Teilchen nach einem der Ansprüche 15 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Standardabweichung in der Substanzmenge zwischen den einzelnen Partikeln höchstens $\pm 20\%$ beträgt.

21. Teilchen nach einem der Ansprüche 15 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass es sich unter physiologischen Bedingungen auflösend und die Substanz fein verteilt freisetzend ausgebildet ist.

30

35

40

45

50

55

60

65

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)